Istituto di anatomia patologica di Palermo
diretto dal prof. S. Sirena

L'INFIAMMAZIONE SECONDO METSCHNIKOFF

PEL

Dott. G. SCAGLIOSI

(Estratto dalla *Riforma Medica*, n. 201, Agosto 1894)

NAPOLI
Tipografia della Riforma Medica
Salita Pontecorvo, 60

1894

Istituto di anatomia patologica di Palermo
diretto dal prof. S. Sirena

L'INFIAMMAZIONE SECONDO METSCHNIKOFF

PEL

Dott. G. SCAGLIOSI

(Estratto dalla *Riforma Medica*, n. 201, Agosto 1894)

NAPOLI
Tipografia della Riforma Medica
Salita Pontecorvo, 60

1894

L'infiammazione comprende una serie di fenomeni, di cui alcuni hanno luogo nel sistema vasale, altri invece nei tessuti, e che si combinano tra loro.

Essa è solo contraddistinta dalla modificata attività vitale delle cellule, i cui corrispondenti ricambi materiali non sono accessibili al microscopio, nè all'analisi chimica. A questa alterazione cellulare succedono secondariamente disturbi nel circolo sanguigno (rallentamento od acceleramento della corrente, restrizione vasale, stasi), al quale poi si connette una fuoriuscita di elementi cellulari, di cellule bianche, quale conseguenza dell'alterazione infiammatoria de'tessuti. Questi rapporti possono accadere in ordine inverso, cioè i fenomeni vasali possono alle volte rappresentare la prima fase del processo infiammatorio. Infatti, quando l' agente nocivo viene direttamente iniettato nel sangue, allo-

ra soffre anzitutto il parenchima sanguigno, mostrando alterazioni morfologiche e numeriche.

In ambedue i casi i fenomeni vasali sono quindi un processo passivo, ed hanno una doppia origine, cioè una diretta, determinata da immediata lesione del sangue ed una indiretta dipendente dall'alterazione de' tessuti. In ogni caso ha però una grande importanza la compartecipazione del parenchima sanguigno nell'infiammazione.

E' ancora cosa disputata tra i patologi, se i corpuscoli bianchi del sangue emigrino attivamente dai vasi sanguigni, o se essi vengano passivamente spinti attraverso la parete vasale. Ognuno che osservi il fenomeno della diapedesi, può constatare *de visu* le modificazioni di forma delle cellule bianche. La loro contrattilità e locomobilità era nota agli osservatori anteriori, B. Lieberkühn e Waller, ma questi vennero dimenticati perchè essi non ne dedussero alcuna spiega per i processi patologici, ed è lecito anche supporre che essi credevano che il processo nulla avesse di comune con l'infiammazione.

I leucociti posseggono una propria attività contrattile, che deve favorirne l' emigrazione, ciò fa rilevare Cohnheim nella sua prima pubblicazione sulla diapedesi delle cellule bianche, ma più tardi adotta egli l'opinione di Hering, cioè che una particolare alterazione della parete vasale può, senza il concorso dell' attività delle cellule bianche, causare efficacemente l' emigrazione. Coh-

nheim, **Hering** (1) e **Sklarewsky** (2) riguardano la fuoriuscita degli elementi sanguigni, quale processo di filtrazione, devoluto all'alterazione della parete vasale. Ma Cohnheim (3), avendo osservato più tardi, che la chiusura delle arterie afferenti riduce la pressione sanguigna al minimo, e da questo momento in poi cessa lo stravaso dei corpuscoli bianchi, così egli fa rilevare, nella seconda edizione del suo libro, la pressione sanguigna come necessaria al fenomeno dell' emigrazione: *Ohne Druck keine Auswanderung.*

Recklinghausen (4) dimostra in seguito a geniali esperimenti, che non bisogna rinunziare ai movimenti autonomi delle cellule, durante il processo dell' emigrazione. Lawdowsky (5) accentua il movimento attivo dei corpuscoli del sangue attraverso la parete vasale e rigetta la pressione sanguigna quale forza espellente. Binz (6) è di questa ultima opinione, avendo osservato l'impedita emigrazione cellulare dai vasi, quando si esperimenta con sostanze, che esercitano una

---

(1) *Wiener acad. Sitzungsberg*. Bd. 57.
(2) *Pflüger' s Arch*. Bd. 1.
(3) *Allgem. Pathologie*. 2 auflage.
(4) *Deut. Chir. - Handb. der allg. Pathol. des Kreisl. u. der Ernährung.*
(5) Mikroskopische Untersuchungeiniger Lebensvorgänge des Blutes. *Virchow's Arch*. Bd. 97.
(6) Wesen der Chininwirkung Berlin. 1868. — *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak*. Bd. 8, n. 13.— Sanerstoff u. Eiterbildung. *Virch. Arch*. Bd. 59, 63, 73.—Verhalten der Blutzellen zum Iod. *Virch. Arch*. Bd. 83.

influenza paralizzante sulle cellule bianche. Sotto la sua guida dimostra anche Scharrenbroich (1), che l'impiego locale o endovascolare dei sali di chinina, fa cessare l'attività e l'emigrazione dei leucociti. Agli stessi risultati viene Mees (2) impiegando l' olio di *eucalyptus*.

Quando la corrente sanguigna ristagna, un altro fattore contribuisce ad agevolare il passaggio dei leucociti.

Infatti, questi ultimi, nella stasi vengono privati d'ossigeno e paralizzati, ed il loro passaggio attraverso la parete viene reso così impossibile; però quando la stasi duri molto tempo, essa è seguita da una permeabilità della parete vasale, non ricevendo più gli elementi anatomici, che la compongono, dell'ossigeno, la cui mancanza deve loro indurre alterazioni delle pareti, che permettono una loro grande permeabilità. Questa si stabilisce prima assai che le alterazioni stesse raggiungano un tale grado, il quale permetta di vederle microscopicamente. La gran parte che ha nell' emigrazione l' attività cellulare, è stata dimostrata anche da Jerusalimsky (3) e da Thoma, il quale ultimo osservò non aver luogo l'emigrazione, quando

---

(1) Ueber entzundl. Störungen des Capillarkreislaufs bei Warmblutern. *Virch. Arch.* Bd. 74. *Berlin klin. Wochenschr.* 1886.

(2) Over de werking van Eucalyptus globulus. Diss. Groningen.

(3) Ueber die physiologische Wirkung des Chinins. Berlin 1875.

i fenomeni vitali dei leucociti diminuiscano o cessino in seguito ad irrigazione del mesenterio con soluzione di cloruro di sodio.

L'emigrazione delle cellule bianche si verifica meglio, quando i corpi stranieri, organizzati o non, invece di esercitare un'azione ripulsiva o paralizzante, spieghino un potere attraente, da ciò i fenomeni chemotactili. Questa sensibilità tattile delle cellule animali, cioè quest'attrazione o repulsione di organismi inferiori operata da certe sostanze attive, è stata accettata, quantunque le nostre conoscenze istochemiche non siano così progredite, da poter dare a questa chemotaxis una base esente da obiezioni. Essa fu primieramente osservata da Pfeffer e Stahl in quei grossi ammassi protoplasmatici, che rappresentano lo stadio plasmotico dei mixomiceti (Schleimpilze), poi fu essa anche veduta negli infusorî, nei nemaspermi e nelle zoospore. Leber (1), Buchner (2), Massart e Bordet (3), Gabritschewsky (4), Steinhaus (5), ed altri, hanno poi fornito la prova, che la chemotaxis o chemotropismo può essere causata da sostanze chimiche (veleni batterici, schizomiceti, albuminati alcalini,

---

(1) Die Entzündung. *Fortschritte d. Med.* Bd. 6.

(2) Die chemische Reizbarkeit der Leukocyten. *Münch. med. Wochenschr.* 1890.

(3) Rècherches sur l'irritabilitè des leucocytes, ecc. *Annales de l'Instisut Pasteur*. T. VI.

(4) Sur les proprietès chimiotactiques des leucocytes, *Annales de l'Institut Pastenr*. T. IV.

(5) Aetiologie der acuten Eiterungen. Leipzig 1889.

mercurio, rame, cinabro, indaco, ecc.). Da questa chemotaxis non si può dedurre, come specialmente Leber ritiene, che essa estenda la sua azione sino all' indentro dei vasi, cioè sui corpuscoli bianchi in essi contenuti.

Questa teoria dell' attrazione bisogna che subisca una restrizione, e darle valore solo quando i leucociti giacciono fuori de' vasi, poichè a me sembra, che la trasudazione del sangue attraverso le pareti vasali, cioè la formazione della linfa, non sia un processo meccanico; le pareti vasali prendono parte alla infiammazione, in quanto che esse godono ancora di proprietà vegetative (Heidenhain (1)). Eliminata così la sensibilità tattile quale causa del passaggio de'corpuscoli bianchi attraverso la parete vasale, rimane precipuamente l'energia e l' attività di questi ultimi, in virtù dell' attiva locomozione della loro sostanza, a spiegare il fenomeno dell'emigrazione bianca.

L'avvenuto accumulo dei leucociti, quando dei liquidi non respingono le cellule bianche del sangue, non induce la distruzione dei batterî; questo processo non ha quel potere digestivo, che gli ascrivono Metschnikoff ed i suoi seguaci.

Io non posso fare a meno di mostrare i miei dubbî su quest' azione deleteria della fagocitosi, cioè che i leucociti prendano i batterî penetrati nell'organismo per distruggerli.

---

(1) Versuche und Frage zur Lehre von der Lymphbildung. *Pflüger's Arch.* Bd. 94.

Metschnikoff crede, che la mobilità di questi elementi cellulari insieme alla loro capacità digestiva sia un mezzo di difesa contro gli intrusi.

L'essenza quindi della infiammazione è, secondo Metschnikoff, un accumulo di cellule voraci, di fagociti attorno ai batterî. Se così fosse, allora dovrebbe dedursi da un processo patologico, che sta in un certo rapporto con l'infiammazione, una conclusione generale, non patologica e non giustificata, perchè la fagocitosi insorge anche in processi, che non possono essere annoverati nella infiammazione, così nella presenza di polvere, di sangue disorganizzato, o di sostanze che non esercitano alcuna azione chimica nociva sulle cellule. L'infiammazione non è quindi il risultato di una lotta tra l'intruso e la cellula (Baumgarten (1), Weigert (2), ed altri, sollevano in ciò l'obiezione di prova insufficiente), ma è un disturbo di circolazione e cellulare, di cui uno insorge prima o dopo, secondo il luogo, che ha servito agli agenti eccitatori dell'infiammazione, quale punto di attacco; se questi ultimi corrono, come molti microrganismi, nel sangue, allora il disturbo vascolare è il primo fenomeno; se invece essi agiscono localmente, allora si presentano anzitutto disturbi locali nutritivi delle cellule.

Secondo Metschnikoff il cavallo di battaglia delle cellule bianche sarebbe quello

---

(1) Kritik der Phagocytenlehre. *Berl. klin. Wochenschr.* 1884.—Lehrbuch der pathol. Mikologie.

(2) *Fortschrifte der Medicin*, 1887-88.

di liberare gli organismi viventi dai microbî distruggendo questi ultimi. L'ipotesi è attraente ed originale, essa però manca di base solida, perchè potesse essere riguardata quale una funzione leucocitaria.

A me ancora non è riuscito nel sangue di animali infetti (polli, conigli) di osservare una tale incorporazione.

Anche nei preparati di sangue, che mi furono dati all'osservazione dai dottori B. Pernice e G. Alessi (1), non osservai quasi mai la presenza di batterî nei leucociti, e quando ciò rarissimamente si avverava, rimanevo in dubbio, se i batterî fossero morti o quasi morti, o per lo meno si trovassero in uno stato non normale, come nell'erisipela, in cui sempre le più vecchie generazioni di organismi vengono a contatto dei leucociti e sono da questi ultimi incorporati.

Questo processo non ha quindi niente di speciale in sè, poichè è un fatto da lungo tempo noto e stabilito sin da Jastrowitz, che i leucociti ricettano nel loro seno corpuscoli finamente divisi (corpuscoli rossi inutili, midolla disorganizzata, ecc.), che pervengono alla loro portata, per eventualmente distruggerli od assimilarli, cosicchè i leucociti, se pure mangiano, prendono sempre i resti inutili della tavola.

A prova di una specie di processo digestivo, che i leucociti esercitano sui batterî, furono additate le alterazioni regressive, che

(1) Il sangue nelle infezioni sperimentali (*La Sicilia medica.* — *Ziegler's Centralbl.*, Bd. 2).

essi poi subiscono nell'interno delle cellule. Netschajeff (1) però ha visto forme degenerative dei batterî presentarsi fuori delle cellule, senza che errori tecnici siano stati commessi nel fare i preparati ed usando tutte le misure di precauzione necessarie.

Io posso pienamente confermare i risultati di Netschajeff. Le figure date da Werigo (2) tendenti a provare l'alterazione dei bacilli del carbonchio nelle cellule fagocitarie, sembra che comprovino il contrario di ciò che vuole affermare l'autore, in quanto che non si capisce come un batterio venga degenerato solamente nella porzione di esso, contenuta nel macrofago, senza addimostrare alcun accenno nel rimanente del corpo della cellula batterica. Ciò significa evidentemente che la porzione di batterio contenuta nel fagocita apparisce degenerata per immagine ottica.

Ma Metschnikoff ammette che possano presentarsi batterî alterati fuori il corpo dei leucociti, spiega questo fatto ritenendo che essi cadano fuori dai leucociti quali resti indigeribili, o dopo che le cellule bianche siano andate in isfacelo lasciando così liberi i microrganismi presi e stati alterati durante la loro vita. Ma nè Metschnikoff nè i suoi seguaci hanno dimostrato con l'osservazione diretta l'alterazione dei batterî nei leucociti,

---

(1) Ueber die Bedeutung der Leukocyten bei Infection des Organismus durch Bacterien. (*Virchow's Arch.* Bd. 125).

(2) Développement du charbon chez le lapin. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894).

la cosiddetta digestione intracellulare, e le prove indirette non possono pretendere un valore scientifico.

Netschajeff ha dedotto da accurate ricerche, che le forme assunte nel corpo dei leucociti dai batterî, state ritenute quali alterazioni di questi ultimi, e che i dati per la determinazione di un fermento a reazione acida nel corpo delle cellule bianche sono falsi, e l'errore deriva da un fenomeno ottico determinato da diffrazione della luce, cioè che i batterî, secondo la loro diversa posizione, generano apparenze, che lasciano credere ad una loro avvenuta alterazione.

Le prove di analogia di Metschnikoff che dovrebbero avvalorare la presenza di questo fermento, non sono esenti da obiezioni, poichè il fermento dei leucociti agisce soltanto in soluzione neutra od alcalina, quello delle amebe e degl'infusorî in soluzione acida; quest'ultimo è quindi un fermento simile alla pepsina, come è stato dimostrato da Le Dentu (1) nel laboratorio di Metschnikoff.

I vacuoli degli esseri unicellulari non sono pure da considerarsi quali officine digestive, ma rappresentano gocce liquide prese dal mestruo circondante (2).

Da Leber è stato anche trovato nel pus un fermento con proprietà digestive, che esplica la sua azione fuori della cellula, ciò che per l'appunto Metschnikoff combatte. L'e-

---

(1) *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1890 e 1891).
(2) Le Dentu.—Loco cit.

sistenza di questo fermento extracellulare deve per lo meno diminuire di molto il valore digestivo attribuito alle cellule bianche.

Nell'orgauismo del cane si può osservare sfacelo dei bacilli del carbonchio senza compartecipazione (incorporazione) delle cellule bianche. Alcuni animali, come i porcellini d'India, i conigli ed i polli, che non sono immuni dal carbonchio, mi hanno dato risultato negativo riguardo alla presenza dei batterî nei leucociti. Gli spirilli della febbre ricorrente, come risulta dai lavori di Metschnikoff, non vengono presi dai corpuscoli bianchi sanguigni delle scimmie ed egli spiega questo reperto ammettendo un'incapacità leucocitaria, cioè che i leucociti non possono acchiappare gli spirilli.

Metschnikoff viene così a dichiarare che la fagocitosi non è una funzione leucocitaria costante, forse dipenderà dal gusto della cellula bianca, ma ad ogni modo non rappresenta essa quel mezzo di difesa che volea, o meglio, desiderava donarle, ed inoltre viene a mancare il primo fenomeno, con cui egli ha voluto caratterizzare l'infiammazione.

La fagocitosi non è quindi una lotta cellulare, perchè non è un fenomeno frequente dell'infiammazione.

Per dar base a questa fagocitosi sostenuta dallo scopritore e dai suoi seguaci si è detto ancora di culture virulente ottenute dai leucociti dei polli pieni zeppi di bacilli di carbonchio, poco tempo dopo l'infezione, essendo nello stato normale immuni questi animali dal carbonchio.

Contrariamente a ciò Koch (1) e Petruschky (2), hanno osservato che le cellule bianche del sangue di rana offrono un terreno favorevole allo sviluppo dei bacilli del carbonchio, i quali non lasciano riconoscere perdita della loro primitiva virulenza. Ziegler (3) ha additato l'accrescimento rigoglioso dei bacilli della lebbra dentro le cellule; io e Pernice (4) abbiamo ricavato culture di *micrococcus prodigiosus* sin dopo 10 giorni, e di *bacillus subtilis* dopo 8 giorni dall'iniezione e lo stesso Metschnikoff ha osservato nei ratti bianchi, che dopo due mesi di una iniezione sottocutanea i bacilli tubercolari erano ancora infettivi, nonostante che essi fossero stati incorporati dalie cellule di pus (comunicazione orale) (5).

Tutti questi risultati dimostrano che non si deve riporre molto valore nella cosiddetta fagocitosi, non liberando essa l'organismo infetto dagli ospiti importuni; i leucociti possono anzi, se essi contengono batterî, determinare l'importazione dei microrganismi in organi diversi, ove posti di nuovo in libertà favoriscono così l'ammalarsi dell' organismo. Karg (6) ne riferisce un caso, ma il bello è,

---

(1) *Beiträge zur Biologie der Pflanzen-Cohn*, Bd. 2, 1876.

(2) *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd. 7.

(3) *Ziegler's Beiträge*, Bd.

(4) Ueber die Ausscheidung der Bacterien aus dem Organismus. (*Deut. med. Woch.*, .892).

(5) Klebs.—*Allgemeine Pathologie*, Bd. 2.

(6) Das Verhalten der Milzbrandbacillen in der Pustula maligna. (*Fortschrifte d. Medicin*, 1888)

che con esso crede di dare appoggio alla fagocitosi!!

E' quindi, dice Ziegler, una concezione del tutto arbitraria, l'annettere a questo fenomeno l'idea di una lotta indirizzata alla difesa di un danno.

Gli umori animali, specialmente il siero di sangue, devono avere una grande importanza nella spiegazione dell'immunità. I diversi batterî richiedono per la loro nutrizione determinati, necessari materiali, dalla cui presenza dipendono il loro accrescimento e le condizioni di quest'ultimo. La quantità del materiale nutritivo presente nel momento d'invasione batterica deve avere un valore decisivo per la maniera di comportarsi dei microrganismi. In questo modo è reso comprensibile il fatto, che i bacilli del carbonchio si sviluppano male o niente affatto nel sangue di alcuni animali, e che in quello di altri invece crescano scarsamente, ed ancora in quello di altri abbiano rigoglioso sviluppo.

L'inclinazione di Metschnikoff di considerare la vera causa dell'immunità con l'adattamento ad una crescente capacità di prensione da parte delle cellule bianche è poco verosimile, perchè bisogna prendere in considerazione anche i liquidi, la cui alterata produzione bisogna pensare, che sia sempre dipendente dalla condizione delle cellule (1)

(1) E. Centanni.—Die specifische Immunisation der Elemente der Gewebe. Ein Beiträg zur Kenntniss der Immunität und der Serumtherapie bei Rabies. (*Deut. med. Woch.*, 1893).

A. Kossel. — Ueber die Lymphzellen. (*Deut. med. Woch.*, 1894).

Metschnikoff rigetta il siero sanguigno quale causa dell' immunità, perchè i bacilli del carbonchio si sviluppano in modo del tutto normale sul siero sterilizzato. Ma questo non prova ciò che egli vuol provare, non avendo egli constatato, se questo siero avesse cambiato con la sterilizzazione le sue proprietà chimiche. Infatti assevera Buchner che l'azione antisettica del siero sanguigno va perduta col riscaldamento per mezz'ora alla temperatura di 55° C.

Una parte delle alexine (sostanze di difesa) di Buchner sembra che possegga una debole costituzione, in guisa che è giusta l'idea che il calore scinda questi corpi chimici.

La riduzione e l'elevamento delle ricettibilità negli animali si fonda specialmente sullo stato generale di nutrizione, che porta con sè una diminuzione di alexine nel corpo.

Sperimentalmente è stata provata l'influenza del digiuno (1), della sete (2), del lavoro eccessivo e del raffreddamento del corpo, e si può pensare bene, che il siero sanguigno venga da queste cause indebolito nella sua funzione per impedita produzione di alexine oppure che le alexine formatesi vengano neutralizzate (3).

---

(1) Canalis e Morpurgo. — Intorno all' influenza del digiuno, ecc. Roma 1890.

(2). B. Pernice e G. Alessi.—Sulla disposizione alle malattie infettive negli animali privati dell' acqua. (*Boll. della Soc. d' Ig. di Palermo*, 1891).

(3) Walter Kruse. — Bemerkungen über In

Perciò sembra logico rigettare senz' altro la inconseguente fagocitosi di **Metschnikoff**, sino a che non ne siano date prove lampanti.

Ma allora a che cosa serve l' aumento dei corpuscoli bianchi del sangue e la loro emigrazione ? Anzitutto un po' di storia e poi concluderò.

Cohnheim (1) nella prima e nella seconda edizione delle sue lezioni sulla patologia generale dice : « in grewissen frühen, embryonalen Stadien scheint die Auswanderung farbloser Blutkörperchen ein ganz regelmässinger und gewiss bedeutsamer Vorgang zu sein ». E ancora oltre : « durch die Capillaren der Darmschleimhaut können schon während der physiologischen Circulationsschwankungen Blutkörperchen extravasiren ». **Rechlinghausen** (2) ha osservato la diapedesi fisiologica dei leucociti nei capillari, piccole vene ed arterie, della coda dei girini. **Hering** (3) ha mostrato, che il processo di emigrazione delle cellule bianche del sangue non è esclusivamente da ritenerlo quale patologico, ma rappresenta un fenomeno fisiologico metodico, a cui spettano certamente determinate funzioni per i tessuti. **Hofmeister** (4) ha provato che l'infiltrazione cellulare nella

---

fection Immunität u. Heilung. (*Ziegler's Beiträge*, Bd. 12).

(1) Vorlesungen über allg. Pathologie. Berlin, 1882.

(2) Das Lymphgefässystem. Stricher's Handbuch der Gewebelehre.

(3) *Wiener akad.* Sitzungsberg. Bd. 56 e 57.

(4) *Arch. f. exp. Pathol.*, Bd. 22.

mucosa intestinale durante la digestione è un fenomeno normale. Lawodowsky (1) ha visto questa emigrazione nel feto umano, e non raramente negli animali adulti, specialmente bene nelle larve del tutto normali di *Axolot* L' emigrazione e la fuoriuscita delle cellule bianche alla superficie del corpo, dove rappresentano i corpuscoli del muco e della saliva, fu recentemente riconosciuta da Stöhr (2) quale funzione fisiologica delle formazioni tonsillari, delle amigdale e delle ghiandole follicolari. L. Colin (3) comunica osservazioni sulla diapedesi dei leucociti nello stato normale. Klein (4) ed il suo scolare Watney parlano anche del passaggio dei leucociti attraverso l' epitelio sano delle tonsille.

Corrispondentemente ai risultati su addotti di questi indagatori si può riconoscere, che l' essenza dell' infiammazione è da ritenersi in certo modo essere un aumento dell' emigrazione fisiologica dei leucociti. La fuoriuscita delle cellule bianche, non possedendo esse proprietà fagocitarie, non può essere diversa dai processi fisiologici, essa rappresenta piuttosto e soltanto un aumento quantitativo.

Il processo di emigrazione cellulare non è altro quindi che un accrescimento delle proprietà vegetative dell' organismo.

---

(1) Mikroskopische Untersuchung einiger Lebensvorgänge des Blutes. *Virch. Arch.*, Bd. 97.

(2) Ueber Mandeln und Balgdrüsen. *Virch. Arch.*, Bd. 97. — Lehrbuch der Histologie, Jena 1891 e *Biolog. Centralblatt*, 1882.

(3) Diapédèse des leucocytes chez l'homme, ecc. *Arch. de méd.*, 1875.

(4) Elements of Histology, 1883.